

AN 1986:39702 CAPLUS

DN 104:39702

TI Manufacture of an antitumor substance from cartilage

IN Suzuki, Fujio; Kato, Yukio; Kai, Yuji; Takigawa, Masaharu; Shiio, Takeshi

PA Ajinomoto Co., Inc., Japan

SO Jpn. Kokai Tokkyo Koho, 6 pp.

CODEN: JKXXAF

DT Patent

LA Japanese

FAN.CNT 1

PATENT NO.	KIND	DATE	APPLICATION NO.	DATE
PI JP 60178820	A2	19850912	JP 1984-32199	19840222 <--
JP 05073760	B4	19931015		

AB Animal ***cartilage*** was ***extd*** . with an aq. solvent, and the ***ext*** . was treated with a hydrophilic ***org*** . ***solvent*** to give a ppt. with mol. wt. of 10 .times. 105 - 30 times. 105 and with vascular epithelial cell growth inhibition activity. The antitumor protein-like substance is sepd. by chromatog. on diethylamino agarose by using 0.25-0.6M NaCl as eluent. Thus, 350 g cartilage from calf fetuses was homogenized with 1M guanidine-HCl-0.1M 6-amino-n-caproic acid (pH 6.0) and the homogenate was centrifuged at 8000 rpm for 20 min to give a supernatant, which was subjected to 65% Me2CO fractionation. After centrifugation, the ppt. was dissolved in distd. H2O, dialyzed and freeze-dried to obtain a product, which was dissolved in 4M guanidine-HCl-0.01 M EDTA-0.1M 6-amino-n-caproic acid (pH 6.5), subjected to ultrafiltration on XM-300 membrane and Spectrofilter UF(A) membrane, dialyzed and freeze-dried. The resultant product dissolved in 10 mM Na phosphate buffer (pH 8.0) was chromatographed on DEAE-Sepharose CL-6B (gradient elution 0-0.6M NaCl) to give an active fraction with vascular epithelial cell growth inhibition activity (6400 units/mg protein). The antitumor activity of the prepn. was demonstrated in mice.

[Help](#)

[Logout](#)

[Main Menu](#) | [Search Form](#) | [Result Set](#) | [Show S Numbers](#) | [Edit S Numbers](#)

[First Hit](#)

[Previous Document](#)

[Next Document](#)

[Full](#) | [Title](#) | [Citation](#) | [Front](#) | [Review](#) | [Classification](#) | [Date](#) | [Reference](#) | [Claims](#) | [IOMC](#)

Document Number 12

PAT-NO: JP360178820A

DOCUMENT-IDENTIFIER: JP 60178820 A

TITLE: PREPARATION OF ANTITUMOR ACTIVE SUBSTANCE

PUBN-DATE: September 12, 1985

INVENTOR-INFORMATION:

NAME

SUZUKI, FUJIO

KATO, YUKIO

KAI, YUJI

TAKIGAWA, MASAHIRO

SHIIO, TAKESHI

ASSIGNEE-INFORMATION:

NAME

AJINOMOTO CO INC

COUNTRY

N/A

APPL-NO: JP59032199

APPL-DATE: February 22, 1984

INT-CL (IPC): A61K 35/32; A61K 37/02

ABSTRACT:

PURPOSE: To obtain the titled substance, by extracting an animal cartilage with an aqueous solvent, precipitating it with a hydrophilic solvent, separating a specific fraction.

CONSTITUTION: An animal cartilage such as cartilage of bovine fetus, etc. is sliced, homogenized with an aqueous solvent (e.g., aqueous solution of salt, etc.), and fractionated with acetone (45~65wt% precipitated). The prepared precipitate is redissolved in the aqueous solution of salt, and separated by membrane fractionation (100,000~300,000 molecular weight). A substance having inhibitory activity against multiplication of endothelial cell of blood vessel is separated from it. Or, it is further adsorbed on diethylaminoethyl agarose (7~9pH), and eluted with a saline solution (0.25~0.6M). The substance is optionally purified by a protein purifying means such as dialysis, etc., lyophilized and can be preserved.

EFFECT: An animal cartilage having low side effect owing to derivation from organism, obtainable in a large amount, is used as a starting raw material.

COPYRIGHT: (C)1985,JPO&Japio

[Main Menu](#) | [Search Form](#) | [Result Set](#) | [Show S Numbers](#) | [Edit S Numbers](#)

[First Hit](#)

[Previous Document](#)

[Next Document](#)

[Full](#) | [Title](#) | [Citation](#) | [Front](#) | [Review](#) | [Classification](#) | [Date](#) | [Reference](#) | [Claims](#) | [IOMC](#)

[Help](#)

[Logout](#)

[Help](#)

[Logout](#)

[Main Menu](#) | [Search Form](#) | [Result Set](#) | [Show S Numbers](#) | [Edit S Numbers](#)

[First Hit](#)

[Previous Document](#)

[Next Document](#)

[Full](#) | [Title](#) | [Citation](#) | [Front](#) | [Review](#) | [Classification](#) | [Date](#) | [Reference](#) | [Claims](#) | [KOMC](#)

Document Number 33

Entry 33 of 53

File: DWPI

Sep 12, 1985

DERWENT-ACC-NO: 1985-266692

DERWENT-WEEK: 198543

COPYRIGHT 1999 DERWENT INFORMATION LTD

TITLE: Extraction of antitumour substances from mammalian cartilage - using aq. soln. of hydrophilic solvent

PATENT-ASSIGNEE: AJINOMOTO KK[AJIN]

PRIORITY-DATA: 1984JP-0032199 (February 22, 1984)

PATENT-FAMILY:

PUB-NO	PUB-DATE	LANGUAGE	PAGES	MAIN-IPC
JP 60178820 A	September 12, 1985	N/A	006	N/A
JP 93073760 B	October 15, 1993	N/A	005	C07K 015/06

APPLICATION-DATA:

PUB-NO	APPL-DESCRIPTOR	APPL-NO	APPL-DATE
JP60178820A	N/A	1984JP-0032199	February 22, 1984
JP93073760B	N/A	1984JP-0032199	February 22, 1984
JP93073760B	Based on	JP60178820	N/A

INT-CL (IPC): A61K 35/32; A61K 37/02; C07K 15/06

ABSTRACTED-PUB-NO: JP60178820A

BASIC-ABSTRACT: The extraction method of anti-tumour substances consists of extraction with aq. solvent. The anti-cancer substance obtd. is characterized by (a) having inhibitory activity against vessel endothelium increase, (b) mol. wt. of 100-300 thousands, (c) being adsorbed on diethylaminoethyl agarose, and (d) being eluted with 0.25-0.6M NaCl soln..

USE/ADVANTAGE - Only the fraction of the extract of mol. wt. 100-300 thousands shows anti-tumour activity and inhibitory activity against vessel endothelium increase. Suitable cartilage as extraction material is embryo cartilage, esp. bovine embryo cartilage. It is not clear whether the anti-tumour substance and the inhibitory activity component against vessel endothelium increase are the same or different, but they exist in the same fraction. The anti-tumor substance can be purified by membrane fractionation adsorption on diethylaminoethyl agarose, dialysis etc.. It has reduced side effects, is easily prepared and can be administrated as an oral or injectable compsn..

CHOSEN-DRAWING: Dwg.0/0

DERWENT-CLASS: B04

CPI-CODES: B04-B04E; B12-G07;

[Main Menu](#) | [Search Form](#) | [Result Set](#) | [Show S Numbers](#) | [Edit S Numbers](#)

[First Hit](#)

[Previous Document](#)

[Next Document](#)

[Full](#) | [Title](#) | [Citation](#) | [Front](#) | [Review](#) | [Classification](#) | [Date](#) | [Reference](#) | [Claims](#) | [KOMC](#)

[Help](#)

[Logout](#)

⑫ 公開特許公報 (A)

昭60-178820

⑬ Int.Cl.⁴A 61 K 35/32
37/02

識別記号

ADU

府内整理番号

7138-4C
7138-4C

⑭ 公開 昭和60年(1985)9月12日

審査請求 未請求 発明の数 1 (全6頁)

⑮ 発明の名称 抗腫瘍活性物質の製造方法

⑯ 特 頼 昭59-32199

⑰ 出 頼 昭59(1984)2月22日

⑱ 発明者	鈴木 不二男	豊中市中桜塚2-13-11
⑲ 発明者	加藤 幸夫	枚方市禁野本町2-11-2752
⑳ 発明者	開祐 司	八尾市八尾木22-1
㉑ 発明者	滝川 正春	大阪市阿倍野区晴明通9-7
㉒ 発明者	椎 尾 剛	鎌倉市山崎1495-5
㉓ 出願人	味の素株式会社	東京都中央区京橋1丁目5番8号

明細書

1. 発明の名称

抗腫瘍活性物質の製造方法

2. 特許請求の範囲

1. 動物軟骨より、水性溶媒で抽出した後、親水性有機溶媒で沈澱せしめ、血管内皮細胞増殖阻害活性を有する限外済過法で測定したときに分子量10～30万の画分を分離することを特徴とする抗腫瘍活性物質の製造方法。

2. 抗腫瘍活性物質が、ジエチルアミノエチルアガロースに吸着し0.25～0.6M食塩水で溶離できるものである特許請求の範囲第1項記載の方

3. 発明の詳細な説明

本発明は抗腫瘍活性物質の新規製造方法に関する。

本発明者は、軟骨組織よりの粗抽出物はそのままで抗腫瘍活性を示さないが、水性溶媒で抽出した後、親水性有機溶媒で沈澱せしめ血管内皮細胞増殖阻害活性を有する分子量10～30万の画

分を分離したところこれが抗腫瘍活性を示すことを見出し、この発見に基づいて本発明を完成するに至った。すなわち、この物質は、上記粗抽出物よりスマートメジン様成長因子CDF (Cartilage-Derived Factor) を分離した残渣より抽出精製されたものである。

本発明の出発物質として使用する動物軟骨は多量に入手できるという点で胎児軟骨、特に牛胎児軟骨が好ましい。

本発明の目的物質は水に可溶、親水性有機溶媒に難溶であるが、出発物質より抽出するには、グアニジン等塩水溶液でpH5～7程度の塩溶液に溶解し、これにアセトン、エタノール等の親水性有機溶媒を加えて再沈澱せしめ分取すればよい。

分子量10～30万の画分を分離するには例えば膜分画法を採用すればよい。

血管内皮細胞増殖阻害活性の測定は公知の測定手段を利用すればよいが、本発明では後述の方法により行った。

なお、血管内皮細胞増殖阻害活性成分と抗腫瘍

血管内皮细胞、斜毛红牛膝虫卵囊内皮细胞及血浆
①方法、斜毛红牛膝虫卵囊内皮细胞及血浆
1.1-1.4KCl 大约 5×10^5 虫卵囊或 0.1 ml 血浆
4% 牛胎児血清含有较少少细胞培养液 (Minimum
Essential Medium) 中化胰酶 L、胰酶 L、5% 胎酮
抗生素氯化钠。培养 3 日使虫卵囊细胞
嵌在有孔的、疏松培养 (材料是半胱氨酸聚苯乙烯
网状物 (对脂) 逐渐加 L, 在加上 D 22 时间用
胰酶液 (对脂) 及过氧化物酶催化用以帮助蛋白酶
降解 (对脂) 使酶加 L, 在加上 D 22 时间用

以下，英語測驗之所以本說明文詳細化說明文字。

本药明它得与水充盈量之制制剂之乙便用于之
器合化、之之支毛之过道当水相你之之化
器口损与支之水、生理食水化游解乙在时发与

郵局號 60-178820 (乙)

○：對照
●：試料 D 200 mg/ml (磷酸鹽) 添加
PC 老化。試料 D (磷酸) 的用量作用在第 2 圖
數化反應率。試料 D (磷酸) 的用量作用在第 1 圖
2 x 10⁶, 酵母孢子濃度 1%, 1 日置於 4℃ 培養在
2 x 10⁶, 酵母孢子濃度 1%, 1 日置於 4℃ 培養在
○：對照
●：試料 D 200 mg/ml (磷酸鹽) 添加
PC 老化。

《当代中国政治学》教材编写组编著，《当代中国政治学》教材编写组主编

植物：桑；动物：蠶

$$\text{DNA 合成阻塞率}(\%) = \left(1 - \frac{\text{对照组 DNA 合成}}{\text{实验组 DNA 合成}} \right) \times 100$$

• 防寒服 1 四款示之表。

3 H-半胱氨酸 (羧基端 $\text{AC}(\text{H})$) 增加后, 在 5'-RC2 脐带间核 DNA 面分 ~2.5 适当光亮 ^{3}H 放射能见带
即带 λ 、 Γ DNA 合成 λ 带。材料如上称取的
DNA 合成量上少, 下部或此化上少材料的脂带可见本

水溶液的浓度以每升含氯化钾 6~7 克为宜。

又如，当与双工工作站（DEAE）接触时，细胞膜选择透过性发生改变。如果将细胞置于一个含有DEAE的双工工作站中，细胞膜的通透性会增加，从而导致细胞内物质的流失。

具体的化纤织物品种，牛脂见数据表之三十六。水洗率较低的品种中如涤纶、尼龙等，其纤维的吸湿性良好，牛脂见数据表之三十七。水洗率较高的品种中如棉、毛、丝等，其纤维的吸湿性较差，牛脂见数据表之三十八。

因此在應用於公私兩方面，就可為公私兩方面的財政上，起一個好的作用。這就是我們所謂的「財政手續化」。

图2：胰岛素抵抗与HbA_{1c}的散点图 (n = 7)

D 7 77% 3/7

2

18、結果を表す記号。

ICR 能力指数(5 题令)④成下降趋势——
1.8 0 病房搬出病房去移馆区、搬病房去区外、院科
1.2 2 病房住进病房去移馆区、搬病房去区外、院科
1.1 7 生理生化实验室去移馆区、搬病房去区外、院科
1.0 7 生理生化实验室去移馆区、搬病房去区外、院科
0.9 5 题令 5 题令 5 题令 5 题令 5 题令 5 题令

（七）本公司會有手稿。

Somatostatin-mediated-like action on cultured chondrocytes
Rex Celi Ross, vol. 132 P 339-347 (1981).

一方、試料BとEのCIEDE2000による色彩距離は、
Katoらの報告¹によれば、約1.4である。

$$I.R. = \frac{[(\text{预期的回报率} - (\text{预期的回报率})^2) / \text{预期的回报率}]}{\times 100\%}$$

$$I.R. = \frac{(\text{好用率の測定値}) - (\text{既存機器との測定値})}{(\text{好用率の測定値})} \times 100\%$$

率(I.R.)を求む、結果を表1に示す。

根据外接源板（附件C）连接光。附件B为同轴连接器
L、旋转电源L266号的附件B电源品元件。
ICR座上插入（5脚针）的座下孔插入一端一
1180同轴电源线元件，扭紧L6无锁，材料A
如上图B电源品元件无机壳2号生塑盒灌水化料
屏L壳6号的L6对胶带L7生塑盒灌水化料
2回放下板与L、同轴移插件5脚针目的喷漆D板、
根据L上5脚针元件固定L次的式把L6脚排用止

②結果、7例中3例は腹膜炎を完全に退縮し、そのうち2例は臍周囲の皮膚腫脹が消失し、他の5

(2) 中間見数値 1508.14 売上 = 100% 銀團
0.1M6 - T31 - n - 47.0% (M6.0)
125.6 中古車中古車 - 12.5% 売上 = 100% 銀團
C4 8 時間開業の銀團 8000 ppm, 2.0 分 (4c)
銀團 4.2 分上銀團 7.0 分 2.0% 銀團 4.5% 銀
團 0.0 分 0.2 分上銀團 1.0 分 2.0% 銀團 0.0 ppm
22.0 分 (4c) 銀團 1.0 分上銀團 0.5% 銀團 0.0
10.0 分 加算、銀團 6.5% 2.0 分上 2.0 分加算
Lc. 8000 ppm 2.0 分 (4c) 銀團。總 5.0
銀團 5.0 分の銀團水比銀團 Lc. 銀團水比銀團 Lc.
4C 下 4.8 時間銀團の銀團銀團銀團 Lc. 銀團

如 $L_t P < 0.01$

A	7	-2.5%
B	7	56.0%

1

该图是《龙之谷》、《怪物》以及《水浒传》等书籍的封面。

対して透析の後凍結乾燥し 270 mg の試料 E を取得し、これを 1.0 mM 鐵酸ナトリウム緩衝液 (pH 8.0) 3.0 ml に溶解し、不溶物を遠心除去し 試料 F を得た (蛋白 1.38 mg)。これを「DEAE セファロース CL-6B」 (DEAE アガロース; ファルマシア社製) カラム (径 1.5 cm × 1.3 cm, 2.3 ml) (1.0 mM 鐵酸ナトリウム緩衝液 (pH 8.0) に平衡化した) に通流し、次いで上記同一緩衝液 0 ~ 0.6 M 塩化ナトリウムを含有した溶液でグラジェント溶出し、溶離液を分画採取した (1 分画 1.3 ml)。

溶離パターン (280 nm 吸光度、血管内皮細胞増殖阻害活性) を第 3 図に示した。分画番号 19 ~ 21 (塩化ナトリウム 0.26 ~ 0.33 M 溶離分画) に血管内皮細胞増殖阻害活性を回収した (活性回収率 103%、比活性 6400 単位/mg 蛋白、×70.4 倍精製)。これを試料 G とした。

C57BL 雄マウスの足底に B16 メラノーマ腫瘍細胞 (3×10^5 個) を移植し、担癌とした後、試料 E (0.5 mg) を生理食塩水に溶解したもの、および対照群として、生理食塩水のみを 6 回皮下

投与し、腫瘍移植後 6 週間目の腫瘍体積を測定し腫瘍阻止率を求め、結果を表 3 に示した。

表 3

試料	n	I. R.
E	7	66%*3

*3 : 腫瘍体積において対照群 (n = 7) に
対して $P < 0.01$

表 3 より試料 E は著しい抗腫瘍活性を示していることが理解される。

C57BL 雌マウスの足底に B16 メラノーマ腫瘍細胞 (3×10^5 個) を移植し、担癌とした後、試料 F 230 μg 蛋白を生理食塩水に溶解したもの、および試料 G 1.0 mg 蛋白を生理食塩水に溶解したもの、および対照群として、生理食塩水のみを 6 回皮下投与し、腫瘍移植後 2.5 週間目の腫瘍体積を測定し腫瘍阻止率を求め、結果を表 4 に示した。

表 4

試料	n	I. R.
F	7	48%
G	7	74%*4

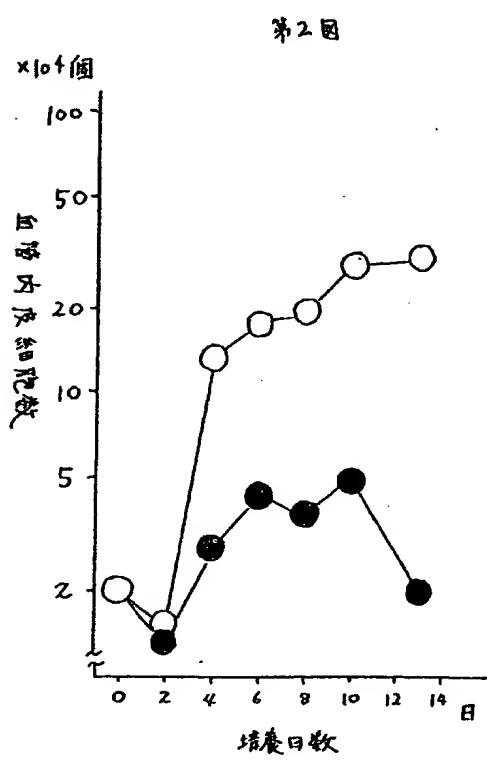
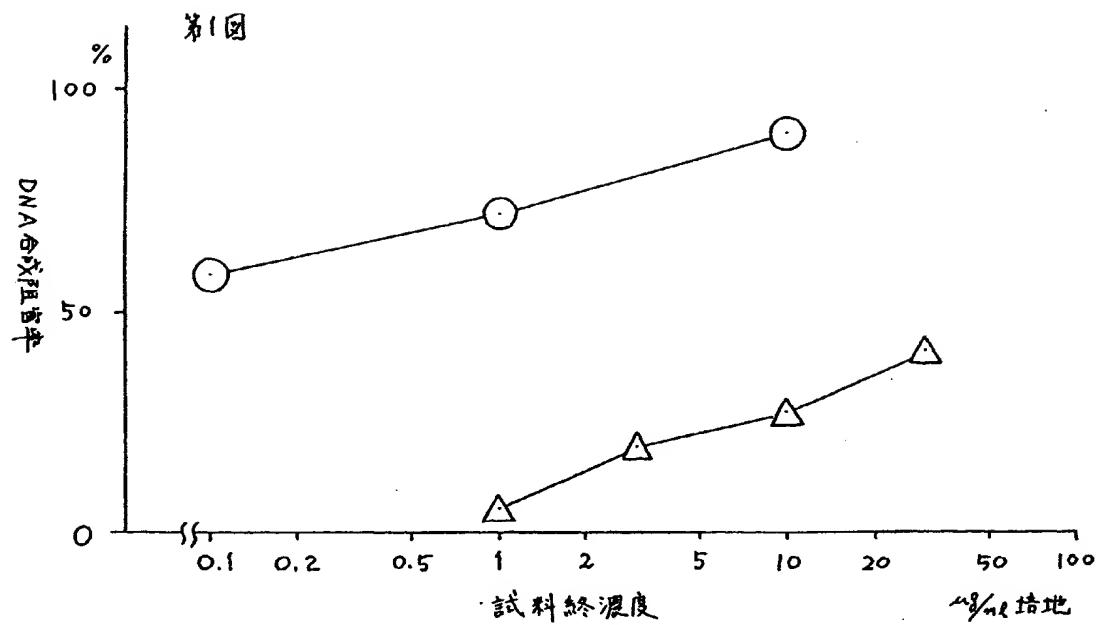
*4 : 腫瘍体積において対照群 (n = 5) に
対して $P < 0.01$

表 4 より、試料 F, G は著しい抗腫瘍活性を示していることが理解される。

なお試料 F, G の 1 回投与量中の血管内皮細胞増殖阻害活性は、各々 2.1 単位、6.5 単位であった。

4. 図面の簡単な説明

第 1 図は DNA 合成阻害率測定例を、第 2 図は試料 D の血管内皮細胞増殖阻害活性作用を、第 3 図は DEAE アガロースカラム溶離パターン (280 nm 吸光度、血管内皮細胞増殖阻害活性) を示す。



特開昭60-178820(6)

第3図

